 doi 10.3969/j.issn.1673-4254.2015.03.26 J South Med Univ, 2015, 35(3): 442-445

基础研究

肝癌模型诱导过程中SD大鼠门静脉、肝静脉血流量及两者比值变化

危 安，陈红天，刘 亮，王柯懿
湖南省人民医院超声科，湖南 长沙 410005

摘要：目的 研究超声监测SD大鼠诱导肝癌过程中肝脏门静脉血流量(Qpv)、肝静脉血流量(Qhv)及两者比值(Qpv/Qhv)变化的可行性及可靠性，并初步研究Qpv/Qhv值的变化与肝硬化及肝癌病变进程的相关性。**方法** 在SD大鼠被诱导至肝癌的过程中，定期对大鼠进行肝脏的超声检查包括彩色血流成像,脉冲多普勒成像,测量门静脉主干(PV)、肝静脉(HV) 血流参数,并计算门静脉血流量与肝静脉血流量比值(Qpv/Qhv)，直至大鼠被诱导至肝癌。**结果** 随着肝硬化程度的加深，门静脉主干内径测值逐渐增大($P<0.05$)。肝癌期及肝硬化期的门静脉主干平均流速均低于正常期($P<0.05$)，而门静脉血流量均大于正常期。正常期肝静脉血流量明显大于肝硬化期及肝癌期。正常期门静脉血流量与肝静脉血流量比值(Qpv/Qhv)明显小于肝硬化期及肝癌期，但肝硬化期与肝癌期的Qpv/Qhv值比较无明显差异。**结论** 无创性超声检测血流可作为监测肝硬化及肝癌SD大鼠模型肝脏血流动力学改变的可靠方法，Qpv/Qhv值的变化与肝硬化及肝癌的病变进程有一定相关性。

关键词：超声检查；大鼠；肝脏；门静脉；肝静脉

Changes in portal vein and hepatic vein blood flow volume and their ratio in SD rats during induced carcinogenesis of hepatocellular carcinoma

WEI An, CHEN Hongtian, LIU Liang, WANG Keyi
Department of Ultrasound Diagnosis, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, China

Abstract: Objective To explore the feasibility and reliability of ultrasonic monitoring of portal vein (PV) and hepatic vein (HV) blood flow volume changes in the process of induced carcinogenesis of hepatocellular carcinoma and the correlation of PV/HV blood flow volume ratio (Qpv/Qhv) with the severity of liver cirrhosis. **Methods** SD rats with diethylnitrosamine-induced liver carcinogenesis underwent regular liver ultrasound examinations including color flow imaging and pulsed Doppler examination. The main PV and HV blood flow parameters were measured to calculate Qpv/Qhv until successful induction of liver cancer. **Results** The PV diameter increased significantly with the severity of liver cirrhosis in the rats ($P<0.05$), and the PV blood flow velocity reduced but the blood flow volume increased significantly in liver cancer and cirrhosis stages ($P<0.05$). Normal hepatic vein blood flow was significantly greater than that measured in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma stages. The Qpv/Qhv measured in normal rats was significantly lower than that in liver cirrhosis and liver cancer stages, but the ratios were comparable between the latter two stages. **Conclusion** Ultrasonography is reliable to monitor the change of liver hemodynamics in rats with induced liver carcinogenesis, in which the changes of Qpv/Qhv are correlated with the severity of liver cirrhosis.

Key word: ultrasonography; rats; portal vein; hepatic vein

我国有85%的原发性肝癌都发生在肝硬化的病理基础上，经历了由肝细胞炎症坏死、纤维化到硬化、癌变的演变过程[1-2]。早期诊断肝硬化并动态监测其变化，有利于提高治疗效果和预后评价，预防肝癌的发生。由于利用人体进行肝硬化发展至肝癌进程中的血流动力学变化规律的研究受到种种限制，实验性动物模型的应用成了研究者的必然选择[3]。本研究通过高频超声监测SD大鼠诱导肝癌过程中肝脏门静脉血流量(Qpv)、肝静脉血流量(Qhv)及两者比值(Qpv/Qhv)的变化，初步探讨该方法的可行性及可靠性，并探讨门静脉血流量与肝静脉血流量比值(Qpv/Qhv值)的变化与肝硬化及肝癌病变进程的相关性。

收稿日期：2014-08-22
基金项目：湖南省卫生厅科技计划项目(B2011-080)
作者简介：危 安，副主任医师，硕士，E-mail: weian1976@163.com
通信作者：陈红天，主任医师，教授，E-mail: 13507416495@139.com

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF级4~5周龄健康雄性SD大鼠，体质量150~170 g，自由进食，购自湖南东创实验动物有限公司。

1.2 研究方法

1.2.1 模型的建立 清洁SD大鼠128只，雄性，体质量150~170 g，所有周龄为4~5周，健康状况良好。无菌条件下，采用腹腔注射二乙基亚硝胺(DEN)诱导建立肝细胞肝癌模型，DEN购于sigma公司，0.95g/ml，纯度

99.9%。采用每0.4 ml配100 ml生理盐水，每100 g体质量给药0.5 ml，每周3次，首周2次剂量加倍。

1.2.2 SD大鼠模型超声检测时段 (1)诱导前检查，此期反映正常大鼠肝脏血流动力学状态；(2)在DEN分别诱导0±1、8±1、10±1、12±1、14±1周后大鼠行经腹超声检查及穿刺取肝组织病理检查以了解大鼠肝脏肝硬化及肝癌的诱导情况。

1.3 超声检测方法

1.3.1 检查前准备 0.3%水合氯醛腹腔注射麻醉，去除腹部肝区体毛后仰卧位固定行超声检测及穿刺，脱毛范围为以剑突下1 cm为中心，5 cm×5 cm的方形区域。

1.3.2 超声检查 采用日立EUB-6500HV彩色多普勒超声诊断仪，用12MHz线阵探头经皮扫查大鼠肝脏，于门静脉主干入肝前约0.5 cm处测量门静脉前后径(portal vein diameter, PVD)[4]，观察血流分布(彩色取样框偏转30°)(图1)，用脉冲波多普勒(PW)及机器自带测量软件检测门静脉主干(PV)平均流速(Vmean)；门静脉的血流频谱检测时，门静脉取样容积置于管腔中央，以免受动脉搏动的影响。在第2肝门附近探及肝静脉(图2)，肝静脉频谱检测取样容积接近于管腔内壁，取样部位靠近第2肝门，测量肝静脉各支(HV)的内径(D)及平均流速(Vmean)，测量血流速度时根据血管走行方向和内径调节取样容积为0.5 mm，校正声束与血流之间夹角(θ)<60度(图3)。测量门静脉及肝静脉平均血流流速时，每次测量包括3~5个连续稳定的多普勒频谱，上述检查均由同一经验丰富的医师完成，每项指标结果取3次测量平均值输入数据库进行统计。根据血流量计算公式 $Q=V_{mean}\times\pi\times(D/2)^2$ 计算门静脉及肝静脉血流量Q(ml/s)。对比分析诱导前期及肝硬化期、肝癌期所测数值的变化是否具有统计学意义。



图1 在大鼠第1肝门附近探查门静脉主干

Fig.1 Main portal vein in the vicinity of the first hepatic portal (PV: portal vein).

1.4 统计学方法

将原始数据输入SPSS19.0软件包进行分析：实验数据采用平均数±标准差表示。SD大鼠诱导前及肝硬化期、肝癌期前后不同3个时期的血流测值组间数据比较采用t或t'检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。



图2 在大鼠第2肝门附近探查肝静脉

Fig.2 Hepatic vein in the vicinity of the second hepatic portal (HV: hepatic vein).

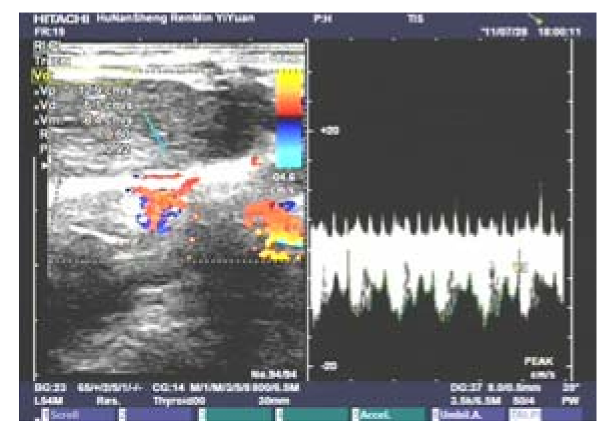


图3 测量大鼠肝静脉的平均流速

Fig.3 Measurement of the mean blood flow velocity of the hepatic vein in rats.

2 结果

病理证实0±1、10±1、14±1周分别为正常、肝硬化中期、肝癌期。8±1周部分大鼠进入肝硬化早期，12±1周多数大鼠进入肝硬化晚期。

正常及肝硬化中期、肝癌期超声检查SD模型大鼠只数及所测数值(表1)。

表1 各期SD模型大鼠血流测值

Tab.1 Blood flow parameters measured in each stage of induced liver carcinogenesis in SD rats

Number	Normal 50	Liver cirrhosis 48	HCC stage 41
Qpv/Qhv	0.71±0.11	0.76±0.67	1.2±0.45
Portal vein diameter (mm)	1.97±0.37	2.27±0.44	2.67±0.40
Portal vein velocity (cm/s)	12.62±4.7	9.77±3.73	9.63±3.77
Portal vein flow (ml/s)	0.37±0.13	0.42±0.34	0.56±0.30
Hepatic venous flow (ml/s)	0.56±0.41	0.55±0.26	0.44±0.32

正常及肝硬化期、肝癌期SD模型大鼠所测血流数值各期比较统计分析数值(表2)。

表2 SD模型大鼠各期所测血流数值比较统计分析

Tab.2 Statistical analysis of blood flow parameters measured in each stage of induced liver carcinogenesis in SD rats

	Normal/Liver cirrhosis		Norma/HCC		Liver cirrhosis/HCC	
	t	*P*	*t*	*P*	*t*	*P*
Qpv/Qhv	1.19	0.23	10.2	0.00	4.86	0.00
Portal vein diameter	2.47	0.02	6.5	0.00	6.73	0.00
Portal vein velocity	2.22	0.04	2.81	0.01	0.27	0.79
Portal vein flow	0.56	0.58	4.33	0.00	3.00	0.00
Hepatic venous flow	0.09	0.93	2.38	0.02	3.34	0.00

正常期、肝硬化期及肝癌期的门静脉主干内径测值各组间比较均有差异性，门静脉主干管腔内径测值随着肝硬化程度的加深而逐渐增大。

正常期门静脉主干平均血流流速测值快于肝硬化期及肝癌期测值，正常期流速测值与肝硬化期及肝癌期的流速测值间差异有统计学意义(P=0.04和0.01)，SD大鼠由正常期诱导至肝硬化及肝癌期的过程中，门静脉主干平均血流流速逐渐减慢。但肝硬化期与肝癌期的门静脉主干平均血流速度测值间差异无统计学差异(P=0.79)。肝硬化期门静脉主干血流量测值虽稍大于正常期测值，但两者间差异无统计学意义；肝癌期门静脉主干血流量则明显大于肝硬化期及正常期血流量测值，且其差异具有统计学意义。

肝静脉血流量正常期测值与肝硬化期测值比较差异不明显，但肝癌期的肝静脉血流量测值则明显小于正常期及肝硬化期测值，其差异均有明显统计学意义。

肝硬化期门静脉血流量与肝静脉血流量比值(Qpv/Qhv)在数值上稍大于正常期血流量比值，但无统计学差异，但肝癌期血流量比值与正常期比值及肝硬化期比值比较均有统计学差异，肝癌期比值明显大于正常期及肝硬化期的血流量比值。

3 讨论

肝脏具有独特的肝动脉系统和门静脉系统双重血供，其中门静脉约占70%~75%，肝动脉约占25%~30%，肝动脉与门静脉系统的肝脏血供比例约1∶3-4[5-6]而肝脏只有肝静脉一套出肝血流系统，理论上同一个体同一时间段门静脉血流量应为其肝静脉血流量的70%~75%。肝硬化时，肝细胞广泛变性、坏死，假小叶形成和纤维组织增生导致肝内血管扭曲、变形，血液循环途径逐渐被改建，这种血流动力学改变程度与肝功能分级密切相关[7]，对于肝硬化治疗方式的选择以及预后的评估具有重要意义。

SD大鼠已被广泛用于病毒性肝炎、肝纤维化、肝硬化及肝脏肿瘤动物模型的建立[8-10]。而超声作为一种安全、无创的检查手段，能较准确地反映肝脏组织声学的变化并提供血流信息[11-12]。高频多普勒超声能获得清晰的SD大鼠门静脉声像图，并能测得门静脉和肝静脉的血流动力学参数，在大鼠实验研究中，可作为一种有效的监测血流动力学变化的手段。不仅可用于肝脏疾病模型建立的评估，还可用于疾病发展的观测和预后评价[13-14]。

本研究通过检测正常SD大鼠及诱导至肝硬化、肝癌不同阶段的门静脉主干内径、门静脉平均血流速度、门静脉血流量(Qpv)、肝静脉血流量(Qhv)及两者血流量的比值，发现随着SD大鼠肝硬化发展的进程，其门静脉主干的内径逐渐增宽，门静脉血流平均流速减慢，该结果与唐红等[15]的研究结果一致。随着大鼠肝脏出现肝硬化及肝癌结节，其门静脉主干血流量逐渐增加，但肝硬化期门静脉血流量与正常期门静脉血流量计算值无统计学差异，考虑在肝硬化期虽然门静脉主干内径增宽，但平均血流流速也相应减低，因而对门静脉血流量的影响不大，两期测值差异性不明显，而肝癌期的门静脉血流量测值则明显高于肝硬化期及正常期，可能与肝癌期多在肝硬化晚期基础上发展而来，合并门脉高压有关，与国内外研究报道的肝硬化门脉高压患者门静脉血流量较正常对照组明显增加的结论一致[16]。肝硬化时门静脉血流增加是全身内脏系统的高动力循环所引起的，分析其原因主要是肝功能损害时肝内某些酶系发生障碍，使得肝脏对内脏及外周具有血管活性作用的物质灭活能力下降，侧支循环的形成又使其逃避了肝脏灭活[17-18]，各种血管因子发生异常失调，产生高动力循环状态，引起内脏充血，明显增加了门静脉血流量，肝内血管阻力增加，从而进一步加大了门静脉压力[19]，导致动静脉短路开放[20]。

本组模型肝静脉血流量在肝癌期明显低于正常期及肝硬化期，而门静脉血流量与肝静脉血流量比值(Qpv/Qhv)在正常期、肝硬化期及肝癌期测值呈逐渐增大的趋势，尤以肝癌期测值增大明显，比值大于1，且与

肝硬化期及正常期测值间有显著差异。考虑其原因可能为肝硬化时肝脏组织内大量纤维间隔形成,肝小叶结构改建,肝静脉在再生结节的压迫、纤维组织的牵拉和肝包膜的紧缩压迫作用下逐步变细和狭窄[21],从而影响肝静脉血流量使其减少,门静脉入肝血流明显超过肝静脉的出肝血流导致门静脉压力增高,大部分门静脉入肝血流由侧枝循环如重开脐静脉或者胃左静脉等分流出肝减轻门脉压力。由此我们可以认为门静脉血流量与肝静脉血流量比值(Qpv/Qhv)的变化规律与肝硬化至肝癌的发展进程存在一定的联系,但是否可以通过对该数值变化的检测来评估肝硬化发展程度及早期预测肝癌的发生还需进一步研究。

参考文献:

[1] 张有辉, 玉苏甫, 哈木拉提吾甫尔, 等. 异常黑胆质性肝癌病证模型肝硬化期免疫, 内分泌紊乱状态[J]. 科技导报, 2008, 28(11): 39-42.

[2] 丁良菊, 任公平, 许 杰, 等. 扶正化瘀方抗肝癌前病变的分子机理研究[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(1): 82-4.

[3] 玉苏甫·吐尔逊, 哈木拉提·吾甫尔, 阿不都卡德尔·库尔班. 二乙基亚硝胺诱发大鼠肝硬化模型的建立及病理学研究[J]. 新疆医科大学学报, 2011, 34(3): 261-4.

[4] 杨蕗璐, 马 琳. 高频超声对正常SD大鼠肝脏血流动力学的检测[J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(36): 3644-8.

[5] 赵丽琴, 贺 文, 胡志海, 等. 肝动脉碘分数在不同肝功能分级肝硬化患者中的变化特点[J]. 首都医科大学学报, 2013, 34(3): 329-32.

[6] 古杰洪, 黄云海, 郭永梅, 等. 320排CT成像全肝灌注临床应用初探[J]. CT和MRI杂志, 2012, 10(2): 62-4.

[7] Jiang HJ, Zhang ZR, Shen BZ, et al. Quantification of angiogenesis by CT perfusion imaging in liver tumor of rabbit[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2009, 8(2): 168-73.

[8] 韩玉梅, 鄢 丹, 胥秀英, 等. 肝脏疾病动物模型的分类与应用[J]. 中药材, 2010, 33(4): 644-7.

[9] Lee SW, Kim SH, Min SO, et al. Ideal experimental rat models for liver diseases[J]. Korean J Hepa-tobiliary Pancreat Surg , 2011(15): 67-77.

[10] Lin J, Zhao J, Li T, et al. Hepa-toprotection in a rat model of acute liver damage through inhibition of CY2E1 activity by total alka-loids extracted from Rubus alceifolius Poir[J]. Int J Toxicol, 2011(30): 237-43.

[11] Rocha HL, Diniz AL, Borges VF, et al. As-sessment of portal venous index as a non-invasive method for diagnosing liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C[J]. Arq Gastroenterol, 2012(49): 14-8.

[12] Huang TL, Chen TY, Tsang LL, et al. Hemodynamics of portal venous stenosis before and after treatment in pediatric liver transplanta-tion:evaluation with Doppler ultrasound[J]. Transplant Proc, 2012(44): 481-3.

[13] Demosthenes DC, Spyridon PD. Ultrasonographic assessment of cirrhosis and portal hypertension[J]. Curr Med Imaging Rev, 2009 (5): 62-70.

[14] Lutz HH, Gassler N, Tischendorf FW, et al. Doppler ultrasound of hepatic blood flow for noninvasive evaluation of liver fibrosis compared with liver biopsy and transient elastogra-phy[J]. Dig Dis Sci, 2012(57): 2222-30.

[15] 汤 红, 唐德萍. 彩色多普勒超声诊断慢性乙型肝炎肝纤维化的临床价值[J]. 安徽医学, 2010, 31(2): 124-5.

[16] 时代音, 董 蕾. 肝硬化患者门静脉血流动力学改变与血清NO相关性分析[J]. 陕西医学杂志, 2011, 40(9): 1172-4.

[17] 杨振林, 耿永志, 程 凯. 内皮素-1,一氧化氮,一氧化氮合酶,B型内皮肽受体及移动抑制因子在大鼠肝肺综合征作用中的初步研究[J]. 中华临床医师杂志:电子版, 2010, 4(10): 1854-9.

[18] 刘 浩, 郑 勇, 陈卫刚, 等. 内源性硫化氢对肝硬化大鼠肝细胞凋亡的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(8): 670-4.

[19] 李许刚. 彩超检查肝硬化患者门静脉系统血流分析[J]. 中国实用医药, 2011, 6(9): 103-4.

[20] 张 硕, 余继海, 许戈良. 门静脉高压症血流动力学研究进展[J]. 肝胆外科杂志, 2013, 21(3): 230-2.

[21] 温小凤, 李敏基, 马顺平, 等. B超检测肝静脉内径对肝硬化诊断意义的初步观察[J]. 右江民族医学院学报, 2008, (1): 46-7.

(编辑:吴锦雅)